

(19)日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-331071

(43)公開日 平成5年(1993)12月14日

(51)Int.Cl. <sup>5</sup>	識別記号	庁内整理番号	FI	技術表示箇所
A 61 K 37/30	ADD	8314-4C		
	AAB			
	ABN			
	ABR			
	ACL			

審査請求 未請求 請求項の数2(全11頁) 最終頁に続く

(21)出願番号	特願平5-1861
(22)出願日	平成5年(1993)1月8日
(31)優先権主張番号	特願平4-27277
(32)優先日	平4(1992)1月17日
(33)優先権主張国	日本(JP)

(71)出願人	000000033 旭化成工業株式会社 大阪府大阪市北区堂島浜1丁目2番6号
(72)発明者	荻島 素弘 静岡県田方郡大仁町田京707-10
(72)発明者	杉山 好徳 静岡県沼津市上香賀二瀬川1486-1
(72)発明者	遠藤 健 静岡県三島市大場163-1
(72)発明者	榑原 秀夫 静岡県三島市中273-12
(74)代理人	弁理士 小林 和憲

(54)【発明の名称】 カルシトニン遺伝子関連ペプチド類の凍結乾燥組成物および安定化法

(57)【要約】

【構成】 カルシトニン遺伝子関連ペプチド(CGRP)類を有効成分とし、安定化剤として、1)有効量のサイクロデキストリン、L-リジン、L-グルタミンまたはL-メチオニン、あるいは2)有効量の塩化ナトリウムと有効量の1種または2種以上のマンニトール、シクロロース、イノシトール、ソルビトール、マルトース、トレハロース、デキストラン、フルクトースおよびガラクトースからなる群より選ばれた糖類またはグリシン、L-アラニン、L-システイン、L-ロイシン、L-アルギニンおよびL-ヒスチジンからなる群より選ばれたアミノ酸類、のいずれか1つを含有することを特徴とする凍結乾燥組成物、およびCGRP類と上記の安定化剤を水性媒体に溶解した後、凍結乾燥することを特徴とするCGRP類の安定化法である。

【効果】 本発明の安定化剤を用いることにより、長期間安定で、安全性の高いCGRP類の凍結乾燥製剤を得ることが可能となる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 カルシトニン遺伝子関連ペプチド類を有効成分とし、安定化剤として、

1) 有効量のサイクロデキストリン、L-リジン、L-グルタミンまたはL-メチオニン、あるいは

2) 有効量の塩化ナトリウムと有効量の1種または2種以上のマンニトール、シュクロース、イノシトール、ソルビトール、マルトース、トレハロース、デキストラン、フルクトース、グルコース、マンノースおよびガラクトースからなる群より選ばれた糖類またはグリシン、L-アラニン、L-システイン、L-ロイシン、L-アルギニンおよびL-ヒスチジンからなる群より選ばれたアミノ酸類、のいずれか1つを含有することを特徴とするカルシトニン遺伝子関連ペプチド類の凍結乾燥組成物。

【請求項2】 カルシトニン遺伝子関連ペプチド類と安定化剤として、

1) 有効量のサイクロデキストリン、L-リジン、L-グルタミンまたはL-メチオニン、あるいは

2) 有効量の塩化ナトリウムと有効量の1種または2種以上のマンニトール、シュクロース、イノシトール、ソルビトール、マルトース、トレハロース、デキストラン、フルクトース、グルコース、マンノースおよびガラクトースからなる群より選ばれた糖類またはグリシン、L-アラニン、L-システイン、L-ロイシン、L-アルギニンおよびL-ヒスチジンからなる群より選ばれたアミノ酸類、のいずれか1つを水性媒体に溶解した後、凍結乾燥することを特徴とするカルシトニン遺伝子関連ペプチド類の安定化法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（以下、CGRPと略す）類を有効成分とする凍結乾燥組成物およびCGRP類の安定化法に関する。

【0002】

【従来の技術】CGRP類は、カルシトニンと構造的に異なっているが、カルシトニンと同じ遺伝子から導かれる1群のペプチドであって、ヒト、ニワトリ、ラット、ブタなどの由来のCGRP類およびその誘導体が知られている。

【0003】ヒトCGRP（h-CGRP）は骨代謝、中枢神経系に作用するペプチドとして知られている〔Nature, 308 (19), 746-748 (1984)、FEBS Letters, 183 (2), 403 (1985)、Neuropeptides, 4, 425-434 (1984)、Nature, 313 (3), 54-56 (1984)〕。

【0004】ブタCGRP（p-CGRP）は心拍数上昇作用を有するペプチドとして知られている〔Neur

opeptides, 9, 75-82 (1987)〕。ラットCGRP（r-CGRP）は血管拡張作用、胃酸分泌抑制作用などを有するペプチドとして知られている〔British J. Pharmacol., 86, 544 (1985)、Regulatory Peptides, 12, 81-89 (1985)〕。

【0005】また、h-CGRP誘導体、ニワトリCGRP（c-CGRP）およびc-CGRP誘導体は血清カルシウム、リン低下作用活性を有するペプチドとして知られている（特開昭62-129297号公報、特開昭63-126894号公報、特開昭63-258490号公報、特開昭64-26598号公報）。CGRP類は上記の通り、様々な生理作用を有することから、幅広い臨床応用が期待されている。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】少量のペプチドや蛋白質等を凍結乾燥して製剤化する場合、賦形剤を添加することが必須である。この賦形剤としては、マンニトールが最も常用されているが、マンニトールをCGRP類の凍結乾燥に対する賦形剤として使用したとき、その安定化効果については、あまり認められない。一方、凍結乾燥における安定化剤としてゼラチン、ヒト血清アルブミン等の高分子物質が用いられているが、これらは、安定化効果は高いが、免疫学的な安全性に問題がある場合が多い。また、安定化剤としてアミノ酸を添加することにより、安定性の向上が見られることが、一部の蛋白質などで報告されているが、CGRP類については不明であった。

【0007】

【課題を解決するための手段】このような問題点を解決すべく、安全で安定な製剤処方を得るため、種々研究を続けた結果、意外にも、CGRP類に対して、糖類の単独での使用の中ではサイクロデキストリンに限り、優れた安定化効果が見られた。

【0008】しかしながら、一般によく使用されているマンニトール、マルトース等は安定化効果は認められなかった。また、グルコース、ガラクトース、マンノース等を使用した場合は、固くて良好な凍結乾燥物が得られず、ガサガサしたあるいは一部糸を引いたような不均一な壊れ易い固形物となり、アンプルの枝部に移動する恐れがあり、ケーキの形状が悪い。ソルビトールを使用した場合は、小さな丸い固形物が分散した状態で底にへばりつき、均一なケーキ状態とならない。フルクトースを使用した場合は、粉末とならず、液化化し、凍結乾燥物が得られない。これら糖類の単独での使用は、サイクロデキストリン以外はCGRP類の安定化剤としては適当ではなかった。

【0009】さらに、アミノ酸類の中では、L-リジン、L-グルタミンおよびL-メチオニンに限り、優れた安定化効果があることを見出した。しかし、一部の蛋

白質製剤において使用されているグリシン、L-アラニン、L-ロイシンなどのアミノ酸では、ほとんど安定化効果が見られなかった。同様に蛋白質、ペプチド製剤でよく使用されているヒト血清アルブミン等の高分子物質はCGRP類に限り安定化効果が見られなかった。

【0010】このように、サイクロデキストリン、L-リジン、L-グルタミンおよびL-メチオニンは、CGRP類に対して特異的に安定化効果を示すことを見出し、これらの化合物をCGRP類の安定化剤として用いることにより、安全でしかも熱安定性に優れたCGRP類の凍結乾燥製剤を提供することが可能となった。

【0011】さらに、研究を続けた結果、安定化剤としてマンニトール、シュクロース、イノシトール、ソルビトール、マルトース、デキストラン、フルクトース、グルコース、マンノース、ガラクトースなどの糖類単独またはグリシン、L-アラニン、L-ロイシン、L-システイン、L-アルギニン、L-ヒスチジンなどのアミノ酸類単独では、その安定化効果は低い、意外にも、上記の各種糖類またはアミノ酸類に一定量の塩化ナトリウムを配合して凍結乾燥することにより、CGRP類の安定性が著しく向上することを見出した。この結果、CGRP類の凍結乾燥製剤の安定化剤として上記の糖類またはアミノ酸類と塩化ナトリウムを併用することにより、安全でしかも熱安定性に優れたCGRP類の凍結乾燥製剤を提供することが可能となった。

【0012】すなわち、本発明の目的は、CGRP類を有効成分とし、安定化剤として、

1) 有効量のサイクロデキストリン、L-リジン、L-グルタミンまたはL-メチオニン、あるいは、2) 有効量の塩化ナトリウムと有効量の1種または2種以上のマンニトール、シュクロース、イノシトール、ソルビトール、マルトース、トレハロース、デキストラン、フルクトース、グルコース、マンノースおよびガラクトースからなる群より選ばれた糖類またはグリシン、L-アラニン、L-システイン、L-ロイシン、L-アルギニンおよびL-ヒスチジンからなる群より選ばれたアミノ酸類、のいずれか1つを含有することを特徴とする凍結乾燥組成物を提供することである。

【0013】また、本発明の目的は、CGRP類と安定化剤として、

1) 有効量のサイクロデキストリン、L-リジン、L-グルタミンまたはL-メチオニン、あるいは、2) 有効量の塩化ナトリウムと有効量の1種または2種以上のマンニトール、シュクロース、イノシトール、ソルビトール、マルトース、トレハロース、デキストラン、フルクトース、グルコース、マンノースおよびガラクトースからなる群より選ばれた糖類またはグリシン、L-アラニン、L-システイン、L-ロイシン、L-アルギニンおよびL-ヒスチジンからなる群より選ばれたアミノ酸類、のいずれか1つを水性媒体に溶解した後、凍結乾燥

することを特徴とするカルシトニン遺伝子関連ペプチド類の安定化法を提供することである。

【0014】まず、本発明の有効成分であるCGRP類とは、CGRP、その誘導体またはそれらの塩である。CGRPおよびその誘導体は公知のペプチド合成法、例えば、液相法、固相法により製造される。CGRPの例としては、h- $\alpha$ -CGRP、h- $\beta$ -CGRP、c-CGRP、r- $\alpha$ -CGRP、r- $\beta$ -CGRP、p-CGRPなどが挙げられる。

【0015】前記の誘導体の例としては、デスアラニル-デアミノ-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-h- $\beta$ -CGRP、デスアラニル-[Asu<sup>2,7</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-[Asu<sup>2,7</sup>]-h- $\beta$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Phe<sup>11</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Phe<sup>11</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Asp<sup>14</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Asp<sup>14</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Asp<sup>14</sup>, Phe<sup>11</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Asp<sup>14</sup>, Phe<sup>11</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asp<sup>14</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asp<sup>14</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Glu<sup>14</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Glu<sup>14</sup>, Gly<sup>23</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Asn<sup>3</sup>, Glu<sup>14</sup>, Phe<sup>11</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Asn<sup>3</sup>, Glu<sup>14</sup>, Phe<sup>11</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、[Glu<sup>14</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-デアミノ-[Glu<sup>14</sup>]-h- $\alpha$ -CGRP、デスアラニル-[Asu<sup>2,7</sup>]-c-CGRP、デスアラニル-[Asp<sup>3</sup>, Asu<sup>2,7</sup>]-c-CGRP、デスアラニル-デアミノ-c-CGRP、デスアラニル-デアミノ-[(4-F-Phe)<sup>11</sup>]-c-CGRPなどが挙げられる。

【0016】上記のCGRP誘導体の製造は、例えば、特開昭62-129297号、特開昭63-126894号、特開昭63-258490号、特開昭64-26598号などに記載されている。前記のCGRPまたはその誘導体の塩としては、薬理学的に非毒性の塩が適宜使用される。例えば、塩酸、硫酸、リン酸などの無機酸との塩、酢酸、酒石酸、コハク酸、クエン酸、リンゴ酸などの有機酸との塩が挙げられる。

【0017】本発明に用いられるCGRP類の使用量は、医薬品として有効な生理活性作用を発現する量を用いればよく、通常、1回投与当り、0.1~500 $\mu$ g程度になるよう調製すればよい。

【0018】CGRP類の安定化剤としては、サイクロデキストリン、L-リジン、L-グルタミンまたはL-メチオニンをそれぞれ単独で使用する、あるいは2種

以上を混合して用いるか、あるいは塩化ナトリウムと糖類またはアミノ酸を併用して用いてもよい。

【0019】上記の糖類としては、例えばマンニトール、シュクロース、イノシトール、ソルビトール、マルトース、トレハロース、デキストラン、フルクトース、グルコース、マンノース、ガラクトースなどが挙げられ、また該糖類は、単独または2種以上を併用して用いてもよい。上記のアミノ酸類としては、例えば、グリシン、L-アラニン、L-システイン、L-ロイシン、L-アルギニン、L-ヒスチジンなどが挙げられ、また該アミノ酸類は、単独または2種以上を併用して用いてもよい。さらにまた、該糖類と該アミノ酸類を併用してもよい。

【0020】上記安定化剤の添加量は、CGRP類1重量部に対し、0.2～100,000重量部程度が好ましく、さらに好ましくは2～10,000重量部程度添加すればよい。塩化ナトリウムの添加量は、糖類またはアミノ酸類1重量部に対して、0.001～5重量部程度が好ましく、さらに好ましくは0.01～1重量部程度添加すればよい。水性媒体としては、例えば注射用蒸留水、生理食塩液などが例示される。さらに上記の水性溶媒は毒性を示さない限り水溶性有機溶媒、例えば少量のエタノール等を含んでいてもよい。

\*

\*【0021】本発明の凍結乾燥組成物を製造するには、例えば、上記の組成のCGRP類、安定化剤を、必要に応じて適宜公知のpH調整剤、等張化剤、安定化剤、増量剤、防腐剤等を混合し、上記の水性媒体に溶解して無菌濾過し、常法に基づいて凍結乾燥すればよい。この凍結乾燥には、通常用いられている条件下で、トレー凍結乾燥、バイアル凍結乾燥などの公知の凍結乾燥法が採用できる。

【0022】

【実施例】以下に、実施例を挙げて、本発明をさらに詳細に説明するが、本発明はこれらに限定されるものではない。尚、実施例で用いたCGRP類は、前記の公知の文献に従って、全て旭化成工業が合成したものを使用した。

【0023】実施例1

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP1mgと下記の表1の安定化剤をとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスアンプルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後熔閉し、用時溶解型凍結乾燥製剤を得た。

【0024】

【表1】

本発明品	安定化剤	添加量 (mg)
1	β-サイクロデキストリン	100
2	L-リジン	1000
3	L-グルタミン	1000
4	L-メチオニン	100

【0025】実施例2

CGRP類および安定化剤を下記の表2に示した組成で混合し、無菌蒸留水20mlに溶解した後、実施例1と

同様に処理し、各々凍結乾燥製剤を得た。

【0026】

【表2】

CGRP類	(mg)	安定化剤	(mg)
h- $\alpha$ -CGRP	0.2	$\beta$ -サイクロデキストリン	40
h- $\beta$ -CGRP	0.2	"	40
c-CGRP	0.2	"	40
デスアラニル-デアミノ-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	"	40
デスアラニル-デアミノ-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	"	40
デスアラニル-デアミノ-[Asn <sup>3</sup> , Phe <sup>16</sup> , Gly <sup>23</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	"	40
デスアラニル-[Asn <sup>2,7</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	"	40
[Asn <sup>3</sup> , Asp <sup>14</sup> , Gly <sup>23</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	"	40
デスアラニル-デアミノ-[Asn <sup>3</sup> , Asp <sup>14</sup> , Gly <sup>23</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	"	40
[Asn <sup>3</sup> , Asp <sup>14</sup> , Phe <sup>15</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	"	20
デスアラニル-デアミノ-[Asp <sup>14</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	"	200
[Asn <sup>3</sup> , Glu <sup>14</sup> , Gly <sup>23</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP		L-リジン	100
デスアラニル-デアミノ-[Asn <sup>3</sup> , Glu <sup>14</sup> , Gly <sup>23</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	L-リジン	200
[Asn <sup>3</sup> , Glu <sup>14</sup> , Phe <sup>15</sup> ]-h- $\alpha$ -CGRP		L-メチオニン	20

9	10
CGRP 0.2	
デスアラニル-デアミノ- (Asn <sup>3</sup> , Glu <sup>14</sup> , Phe <sup>16</sup> ) -h- $\alpha$ -CGRP 0.2	L-メチオニン 100
(Glu <sup>14</sup> ) -h- $\alpha$ -CGRP 0.2	L-グルタミン 60
デスアラニル-デアミノ- (Glu <sup>14</sup> ) -h- $\alpha$ -CGRP 0.2	L-グルタミン 100
デスアラニル- (Asn <sup>3,7</sup> ) -c-CGRP 0.2	L-リジン 100
デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 0.2	$\beta$ -サイクロデキストリン 100
デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 0.2	L-リジン 100
h- $\alpha$ -CGRP 0.2	L-リジン 100
デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 0.2	L-グルタミン 200
h- $\alpha$ -CGRP 0.2	L-グルタミン 200
デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 0.2	L-メチオニン 100
h- $\alpha$ -CGRP 0.2	L-メチオニン 100
デスアラニル-デアミノ- [(4-F-Phe) <sup>37</sup> ] -c-CGRP 0.2	L-メチオニン 200

## 【0027】実施例3

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgとD-マンニトール500mgおよび塩化ナトリウム100mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え、溶解させた。無菌濾過後、ガラスアンプルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後、密閉し、用時溶解型の凍結乾燥剤を得た(本発明品5)。

\*

## \*【0028】実施例4

実施例3において、D-マンニトールの代わりに下記の表3の糖類またはアミノ酸類を用い、塩化ナトリウムを表3の量を用いて同様に処理し、各々凍結乾燥剤を得た(本発明品6~17)。

## 【0029】

## 【表3】

本発明品	糖類・アミノ酸類 (mg)	塩化ナトリウム (mg)
6	D-マンニトール 500	200
7	シュクロース 500	100
8	シュクロース 500	200
9	グリシン 1000	100
10	グリシン 1000	200
11	L-システイン 1000	100
12	L-アラニン 1000	100

11

12

13	D-マンニトール グリシン	500 1000	100
14	D-マンニトール トレハロース	500 500	100
15	D-マルトース	500	100
16	D-マンニトール	1000	100
17	D-マンニトール	2000	100

## 【0030】実施例5

h- $\alpha$ -CGRP 0.5mgとD-マンニトール250mgおよび塩化ナトリウム50mgをとり、無菌蒸留水25mlを加え、溶解させた。無菌濾過後ガラスアンプルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後密閉して用時溶解型製剤を得た。

## 【0031】実施例6

\*20

\*CGRP類、糖類またはアミノ酸類および塩化ナトリウムを下記の表4に示した組成で混合し、無菌蒸留水20mlに溶解した後、実施例5と同様に処理し、各々凍結乾燥製剤を得た。

## 【0032】

## 【表4】

CGRP類	(mg)	安定化剤	(mg)
h- $\beta$ -CGRP	0.2	D-マンニトール 塩化ナトリウム	200 40
c-CGRP	0.2	シュクロース 塩化ナトリウム	200 40
デスアラニル-デアミノ-h- $\alpha$ -CGRP	0.2	グリシン 塩化ナトリウム	200 40
デスアラニル-デアミノ-h- $\beta$ -CGRP	0.2	L-システイン 塩化ナトリウム	200 40

デスアラニル-デアミノ- [Asn <sup>3</sup> , Phe <sup>16</sup> , Gly <sup>23</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	D-マンニトール 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル- [Asn <sup>2,7</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	シュクロース 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル- [Asn <sup>2,7</sup> ] -h-β-CGRP 0.2	グリシン 200 塩化ナトリウム 40
[Asn <sup>3</sup> , Phe <sup>16</sup> , Gly <sup>23</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	L-システイン 200 塩化ナトリウム 40
[Asn <sup>3</sup> , Phe <sup>16</sup> , Gly <sup>23</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	D-マンニトール 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル-デアミノ- [Asn <sup>3</sup> , Asp <sup>14</sup> , Gly <sup>23</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	シュクロース 200 塩化ナトリウム 40
[Asn <sup>3</sup> , Asp <sup>14</sup> , Gly <sup>23</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	グリシン 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル-デアミノ- [Asp <sup>14</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	L-システイン 200 塩化ナトリウム 40
[Asn <sup>3</sup> , Glu <sup>14</sup> , Gly <sup>23</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	D-マンニトール 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル-デアミノ- [Asn <sup>3</sup> , Glu <sup>14</sup> , Gly <sup>23</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	シュクロース 200 塩化ナトリウム 40
[Asn <sup>3</sup> , Glu <sup>14</sup> , Phe <sup>15</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	グリシン 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル-デアミノ- [Asn <sup>3</sup> , Glu <sup>14</sup> , Phe <sup>15</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	L-システイン 200 塩化ナトリウム 40
[Glu <sup>14</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	D-マンニトール 200 塩化ナトリウム 40
[Glu <sup>14</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	D-マンニトール 400 塩化ナトリウム 40
デスアラニル-デアミノ- [Glu <sup>14</sup> ] -h-α-CGRP 0.2	シュクロース 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル- [Asn <sup>2,7</sup> ] -c-CGRP 0.2	グリシン 200 塩化ナトリウム 40



デスアラニル-〔Asp <sup>5</sup> , Asn <sup>2,7</sup> 〕-c -CGRP 0.2	L-システイン 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 0.2	D-マンニトール 200 塩化ナトリウム 40
デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 0.2	D-マンニトール 400 塩化ナトリウム 40
デスアラニル-デアミノ-〔(4-F-Phe) 〕 <sup>37</sup> 〕-c-CGRP 0.2	シュクロース 200 塩化ナトリウム 40

## 【0033】実施例7

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 10mgとD-マンニトール1gおよび塩化ナトリウム100mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスアンプルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後、熔閉し、用時溶解型の凍結乾燥剤を得た。

## 【0034】実施例8

デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 50mgとD-マンニトール1gおよび塩化ナトリウム100mgをとり、無菌蒸留水50mlを加え溶解させた。無菌濾過後、ガラスアンプルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い、窒素置換後、熔閉し、用時溶解型の凍結乾燥剤を得た。

## 【0035】

## 【発明の効果】

## CGRP類安定化試験

## 【対照製剤の調製】

(1) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。無菌濾過後、ガラスアンプルに0.5mlずつ分注し、凍結乾燥を行い窒素置換後、熔閉し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品1)。

(2) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgとD-マンニトール1000mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。以下、同様に処理し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品2)。

(3) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgとマルトース1000mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。以下、同様に処理し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品3)。

【0036】(4) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgとグリシン1000mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。以下、同様に処理し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品4)。

(5) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgと

L-アラニン1000mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。以下、同様に処理し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品5)。

(6) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgとヒト血清アルブミン100mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。以下、同様に処理し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品6)。

【0037】(7) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgと塩化ナトリウム1000mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。以下、同様に処理し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品7)。

(8) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgとD-マンニトール500mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。以下、同様に処理し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品8)。

(9) デスアラニル-デアミノ-c-CGRP 1mgとD-マンニトール500mgおよびグリシン200mgをとり、無菌蒸留水50mlに溶解させた。以下、同様に処理し、用時溶解型凍結乾燥剤を得た(対照品9)。

【0038】【試験方法】前述の実施例で得た本発明品1~17および対照品1~9の各々を60℃にて3ヶ月保存した後、次の条件による高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いてCGRP類の含量を測定し、熔閉直後の含量を100%として残存率を求めた。

## 【0039】HPLC測定条件

カラム: YMC AM-302 ODS S-5 120Å (YMC社製)

内径4.6×150mm

移動相: 0.1%TFA:アセトニトリル=69:31

流速: 0.7ml/分

検出: 220nm

【試験結果】各試料のCGRP類の残存率を表5に示した。

## 【0040】

## 【表5】

	安 定 化 剤	添加量 (mg)	残存率 (%)
対照品 1	なし	—	80
対照品 2	D-マンニトール	10	59
対照品 3	マルトース	10	68
対照品 4	グリシン	10	61
対照品 5	L-アラニン	10	78
対照品 6	ヒト血清アルブミン	1	58
本発明品 1	$\beta$ -サイクロデキストリン	1	100
本発明品 2	L-リジン	10	100
本発明品 3	L-グルタミン	10	99
本発明品 4	L-メチオニン	1	95
対照品 7	塩化ナトリウム	10	81
対照品 8	D-マンニトール	5	75
対照品 9	D-マンニトール	5	84
	グリシン	2	
本発明品 5	D-マンニトール	5	99
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 6	D-マンニトール	5	97
	塩化ナトリウム	2	
本発明品 7	シュクロース	5	97
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 8	シュクロース	5	99
	塩化ナトリウム	2	
本発明品 9	グリシン	10	99
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 10	グリシン	10	99
	塩化ナトリウム	2	
本発明品 11	L-システイン	10	97
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 12	L-アラニン	10	98
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 13	D-マンニトール	5	99
	グリシン	10	
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 14	D-マンニトール	5	99
	トレハロース	5	
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 15	D-マルトース	5	99
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 16	D-マンニトール	10	99
	塩化ナトリウム	1	
本発明品 17	D-マンニトール	20	99
	塩化ナトリウム	1	

【0041】表5の結果に示す通り、サイクロデキストリン以外の糖類、例えば、マンニトール、マルトースなどを単独で添加した対照品、L-リジン、L-グルタミ

ンおよびL-メチオニン以外のアミノ酸、例えばグリシン、L-アラニンなどを単独で添加した対照品、上記の糖類とアミノ酸類の併用、例えば、マンニトールとグリ

シンを併用添加した対照品ならびに塩化ナトリウム単独で添加した対照品は、CGRP類の安定性が著しく低下したのに対し、サイクロデキストリン、L-リジン、L-グルタミンおよびL-メチオニン単独で添加した本発明

\* 明品は優れた安定性を示し、また、上記糖類またはアミノ酸類と塩化ナトリウムを併用した本発明品は優れた安定性を示し、糖類またはアミノ酸類と塩化ナトリウムの併用効果が認められた。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. <sup>3</sup>	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 9/14	L	7329-4C		
	E	7329-4C		
	B	7329-4C		
47/02	J	7433-4C		
47/18	J	7433-4C		
47/26	J	7433-4C		